

氏 名	加藤 誠一
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学 位 記 番 号	第 5 4 9 5 号
学位授与年月日	平成 2 2 年 3 月 2 4 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項
学 位 論 文 名	Reduced ability of hemagglutinin of the CAM-70 measles virus vaccine strain to use receptors CD46 and SLAM (麻疹ウイルスワクチン株 CAM-70 のヘマグルチニンは、麻疹ウイルスレセプター-CD46 および SLAM の利用能力が低下している)
論文審査委員	主 査 教 授 小 倉 壽 副 査 教 授 山 野 恒 一 副 査 教 授 森 田 隆

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】麻疹ウイルスワクチン株 CAM-70 における弱毒化の機構について検討した。また CAM-70 株の親株である Tanabe 株とゲノム配列を比較し、弱毒化に関与する変異の特定を試みた。

【方法】(1) Tanabe 株ヘマグルチニン(H)遺伝子をクローニングし、塩基配列を決定した。(2) CAM-70 株、AIK-C ワクチン株および Tanabe 株の H タンパク質発現プラスミドを用いて CD-46 および SLAM 発現細胞で細胞融合アッセイを行った。(3) (2) で用いたウイルスの H 遺伝子を導入した組換えウイルスの増殖を種々の培養細胞で測定した。(4) CAM-70 株と Tanabe 株の増殖を CD46 発現細胞および SLAM 発現細胞で測定した。(5) CAM-70 株と Tanabe 株およびその H 遺伝子を持つ組換えウイルスの増殖を末梢血リンパ球および単球由来樹状細胞で測定した。(6) H タンパク質発現プラスミドに変異を導入し細胞融合低下に関わるアミノ酸を検討した。

【結果】(1) CAM-70 株と比較し CD46 および SLAM 結合に関わるアミノ酸が異なっていた。(2) CAM-70 株の H タンパク質は細胞融合能が低下していた。CD46 発現細胞では特に顕著だった。(3) CAM-70 H タンパク質を持つ組換えウイルスは CD46 発現細胞および SLAM 発現細胞で増殖低下が見られた。CD46 発現細胞では特に顕著だった。(4) CAM-70 株は、CD46 発現細胞および SLAM 発現細胞で若干の増殖低下が見られた。(5) CAM-70 株は両方の細胞で顕著な増殖低下が見られた。(6) CD46 発現細胞での融合能低下は少なくとも CAM-70 株の T455N および G603E が寄与していた。SLAM 発現細胞ではアミノ酸置換 D505G が大きく寄与していた。

【考察】CAM-70 株は感染ターゲット細胞におけるレセプター利用能の低下が、その弱毒化に寄与している可能性がある。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

麻疹は未だに世界で途上国を中心に多くの死者を出しているウイルス性疾患である。しかし、先進国では弱毒生ワクチンの普及に伴い麻疹の罹患は劇的に減少している。このように弱毒生ワクチンは大きな効果をあげているが、その弱毒化機構は不明である。そのため、ワクチン株 CAM-70 とその親株 Tanabe のヘマグルチニン(H)遺伝子を比較し、弱毒化に関わる変異を探索した。

麻疹ウイルスの H タンパク質は細胞膜上のレセプターと結合する働きがある。H タンパク質のアミノ酸配列を CAM-70 株と Tanabe 株で比較すると麻疹ウイルスレセプターの CD46 および SLAM との結合に関わる部分が異なっていた。強制発現系による細胞融合誘導実験では、CAM-70 株 H タンパク質は CD46 発現細胞および SLAM 発現細胞での細胞融合形成が Tanabe 株 H タンパク質よりも低下していた。

次に野生株の H 遺伝子を CAM-70 株のものと入れ換えた組換え麻疹ウイルスを作製した。CD46 発現細胞および SLAM 発現細胞に感染させたところウイルス増殖の低下が見られた。さらに、体内での麻疹ウイルスの主要な感染細胞であるリンパ球と樹状細胞での実験を行った。前者の細胞は健康なボランティアより採血した血液より分離した。後者の細胞は、同様にヒト単球を分離し GM-CSF と IL4 存在下で樹状細胞に分化させた。両細胞において前述の組換えウイルスは顕著な増殖低下を示した。変異導入による細胞融合誘導実験により、CD46 発現細胞では T455N および G603E、SLAM 発現細胞では D505G が細胞融合低下に関わることが示された。この結果、CAM-70 株における弱毒化機構の一つが H

タンパク質によるレセプター利用能の低下である可能性が示唆された。

本研究は、麻疹ワクチン株における弱毒化機構の一端を明らかにしたものである。これらの研究は短時間でのワクチン作製、組換えワクチン、麻疹ウイルスのベクター利用等への応用に繋がるものであり、本研究者は、博士（医学）の学位を授与されるに値するものと認められた。